Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. A. Bohle

DER EINFLUSS EINER MONOKOMPONENT - INSULIN - BEHANDLUNG AUF DIE GLOMERULÄRE STRUKTUR BEI GENETISCH DIABETISCHEN KK–MÄUSEN.

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

CAMILL HERRMANN
aus Lahr

1981

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. A. Bohle

DER EINFLUSS EINER MONOKOMPONENT - INSULIN - BEHANDLUNG AUF DIE GLOMERULÄRE STRUKTUR BEI GENETISCH DIABETISCHEN KK–MÄUSEN.

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
CAMILL HERRMANN
aus Lahr

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. med. H. Haselmann
1. Berichterstatter:	Professor Dr. med. H. Wehner
2. Berichterstatter:	Professor Dr. Med. A. Bohle

gedruckt bei Fa. H.- J. Köhler, Vor dem Kreuzberg 25 , 7400 Tübingen

Meiner lieben Frau

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548903_0008

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methodik	3
2.1. Insulin	3
2.2. Versuchstiere	4
2.3. Histologische Technik	4
2.4. Auswertung	4
3. Ergebnisse	10
3.1. Kontrolltiere	10
3.2. Versuchstiere	12
3.3. Vergleich zwischen behandelten und unbehandelten Gruppen	15
4. Diskussion	18
5. Zusammenfassung	33
6. Literaturverzeichnis	35

1. EINLEITUNG

Mit der Einführung der Insulintherapie hat sich die Lebenserwartung der Diabetiker wesentlich gebessert. Kaum 1% der Diabetiker stirbt heute noch am Koma, bestimmend für den Krankheitsverlauf sind die vaskulären Erkrankungen d.h. die diabetische Mikro- und Makroangiopathie. Klinisch manifest wird die Mikroangiopathie als diabetisches Gangrän, als Retinopathie und als Nephropathie. Wilson (1951) fasste die drei Nierenaffektionen bei Diabetikern - Arteriosklerose/Arteriolosklerose, Glomerulosklerose und Pyelonephritis - zum klinischen Syndrom der "diabetischen Nephropathie" zusammen.

Charakteristisch für die diabetische Nephropathie ist die noduläre Glomerulosklerose, während die diffuse Glomerulosklerose häufiger auftritt und als nicht spezifisch gilt, da ähnliche Prozesse auch bei nichtdiabetischen Kranken auftreten. (Wehner 1977c) Als Ergebnis einer vermehrten Mesangiummatrixbildung findet man nach 5-9 Jahren Laufzeit eines Diabetes mellitus Noduli.

Während die Ursache der Glomerulosklerose noch immer unbekannt ist, konnte die Entwicklung der morphologischen Veränderungen teilweise geklärt werden. Østerby (1973) fand beim Jugendlichen-Diabetiker als erste glomeruläre Veränderung eine Verbreitung der Basalmembran, die sie nach einer Diabetesdauer von 2-5 Jahren elektronenmikroskopisch nachweisen konnte. Weiterhin fand sie (1972) eine Zunahme von "mesangial basement membrane like material" in den Epithelzellen. Die prozentuale Verteilung der glomerulären Zellen war zu diesem Zeitpunkt noch normal. Abweichend von diesen Ergebnissen konnten Wehner und Majorek (1975) bei Streptozotocin diabetischen Meerschweinchen nach 50tägiger Diabetesdauer eine Mesangiummatrix und

Mesangiumzellvermehrung beobachten.

Die diffuse Form der diabetischen Glomerulosklerose zeigt eine Proliferation der Mesangium- und der Endothelzellen, eine zahlenmäßige Abnahme der Deckzellen und eine Schwellung der Endothelzellkerne. Wehner und Anders (1970) fanden die diffuse Form nach 12jähriger Diabetesdauer bei allen beobachteten Patienten.

Wie oben schon erwähnt, bleibt auch heute noch die Frage nach der Ursache der diabetischen Glomerulosklerose ungeklärt. Bei Versuchen an verschiedenen Tierspezies teils mit künstlich erzeugtem Diabetes, teils mit spontan diabetischen Tieren traten in den Nierenglomeruli Veränderungen auf, die der diabetischen Glomerulosklerose beim Menschen ähnelten. (Bloodworth et al. 1973, Wehner et al. 1976,78)

Als Ursachen für die Erkrankung werden neben der genetischen Disposition, der diabetischen Stoffwechsellage, dem Wachstumshormon auch immunologische Prozesse diskutiert.
Für diese These sprachen der bei insulinbehandelten Patienten gefundene Antikörperspiegel und die Zunahme des Mesangiumvolumens, die bei Patienten unter Insulintherapie gegenüber der Norm auftrat. (Wehner und Anders 1970) Nachdem lange das Insulinmolekül als Antigen betrachtet wurde, konnten nach einer Reihe von Arbeiten die Verunreinigungen der handelsüblichen Präparate für den immunologischen Prozess verantwortlich gemacht werden. Schlichtkrull (1970) konnte durch Gel-Filtration und anschließender Jonenaustauschchromatographie ein vollständig gereinigtes, sogenanntes Monocomponent-Insulin darstellen. In ersten Versuchen an Kaninchen zeigte das MC- Insulin keinerlei Antigenität (Schlichtkrull 1970). In einer klinischen Studie von

W. Korb und R.E. Levett (1973) zeigten die mit MC-Insulin behandelten Patienten innerhalb des 1. Halbjahres nur einen geringen Antikörperanstieg und in den Folgemonaten einen Rückgang auf niedrigere Insulinantikörperkonzentrationswerte, während sich bei der Behandlung mit konventionellen Insulinen ein meist konstanter und höherer Anstieg der Insulinantikörper zeigte.
Wehner et al. (1978) befassten sich in morphometrischen Untersuchungen mit dem Einfluss von MC- Insulin auf die diabetische Glomerulosklerose bei bekannt niedrigem Antikörperspiegel. Die mit Monocomponent-Insulin behandelten Tiere zeigten auch nach 3 Monaten Behandlung kein Fortschreiten der glomerulären Veränderungen.

Wir untersuchten an KK- Mäusen im Blindversuch mit Hilfe der quantitativ-morphologischen Methode zur Erfassung von Glomerulusveränderungen (Wehner und Mitarbeiter 1969, 1970) die Frage, ob auch bei über längere Zeit mit MC- Insulin behandelten Tieren keine morphologischen Schäden bzw. messbare Antikörperspiegel auftreten.

2. MATERIAL und METHODIK

2.1. Insulin

Wir verwendeten in unseren Versuchen MC- Monotard Insulin vom Novo Institut in Kopenhagen. Es handelt sich hierbei um eine Insulin - Zink - Suspension von 30% amorphen und 70% kristallinem MC- Schweineinsulin in neutraler Lösung. Es besitzt eine sehr niedrige Immunogenität.
(Das MC- Insulin wurde uns freundlicherweise von Herrn Dr. Schlichtkrull, Novo- Forschungsinstitut Kopenhagen, Dänemark, zur Verfügung gestellt.)

2.2. Versuchstiere:

30 KK- Mäuse mit einem genetischen Diabetes wurden verwendet. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn 6 Wochen alt. Die Blutzuckerbestimmung ergab einen mittleren Blutzuckerspiegel von 176,4 ± 19,7 mg/100 ml.
Folgende Gruppen wurden gebildet:

2.2.1. Behandelte Gruppen (15 Tiere)

Je 5 Tiere erhielten zweimal täglich 2E MC- Insulin bis zu einem Zeitraum von 6 Monaten subkutan in der Bauchregion.
In Abständen von 1, 3 und 6 Monaten wurden jeweils 5 Tiere getötet. (V_1; V_2; V_3;)

2.2.2. Kontroll - Gruppen (15 Tiere)

Je 5 Tieren wurde in der gleichen Weise 6 Monate lang das Lösungsmittel des MC- Insulins verabreicht. Nach 1, 3 und 6 Monaten wurden jeweils 5 Tiere getötet. (K_1; K_2; K_3;)
Alle Tiere erhielten das gleiche Futter (Altromin Standard, Fa. Altrogge GmbH) und hatten Zugang zu Wasser.

2.3. Histologische Technik:

Die Nieren der getöteten Tiere wurden unmittelbar nach der Entnahme in gepufferter 4%iger Formalinlösung fixiert und 2 Stunden in gepufferter 2%iger Osmiumsäure nachfixiert. Nach Einbettung in Plexiglas wurden am Ultramikrotom 0,5 bis 1 um dicke Schnitte hergestellt und nach Movat versilbert. (Wehner 1970b)

2.4. Auswertung

2.4.1. Morphometrie

Die Schnitte wurden nach Kodierung im Blindversuch

untersucht, d.h. der Untersucher wußte nicht welcher Versuchsgruppe das jeweilige Präparat entstammte. Nach erfolgter Auswertung wurden die Präparate den Versuchsgruppen zugeordnet.

An den 20 Glomeruli pro Tier wurden folgende Parameter bestimmt:

1. Glomeruläre Fläche und Mesangiumfläche mit Hilfe des Punktzählverfahrens am Visopan - Reichert (Objektiv 63/0,75 , 160/0,17 Maßstab 800:1) anhand eines Punktenetzes. (Punktabstand 6 μm) in μm^2.
2. Endothel-, Mesangium- und Deckzellzahl mit dem Ölimmersions - Objektiv bei 1000-facher Vergrößerung.

Aus diesen genannten Werten konnten wir folgende Parameter errechnen:

1. Gesamtzellzahl
2. Anteil des Mesangiums an der Gesamtfläche in %,
3. die glomeruläre Zelldichte (Gesamtzellzahl /1000 μm^2),
4. die mesangiale Zelldichte (Mesangiumzellzahl / 100 μm^2),
5. die prozentuale Verteilung der Endothel-, Mesangium- und Deckzellen.

2.4.2. Antikörperbestimmung

Nach Tötung der Tiere wurden die Seren der Tiere bei -20°C aufbewahrt und nach Abschluß sämtlicher Experimente gesammelt ausgewertet. Die Bestimmung der Antikörperspiegel wurde freundlicherweise von Frau Dr. C. Heding vom Novo Forschungsinstitut in Kopenhagen durchgeführt.

Die Bestimmung der Antikörper gegen Schweineinsulin erfolgte nach der von Schlichtkrull et al. (1974) beschriebenen "%Bindung - Methode". Zu 100 μl eines Phosphatpuffers wurden 100 μl unverdünntes Serum und 100 μl ^{125}J- Schweineinsulin (Verdünnung 1:238 = 100 μU/ ml) gegeben, die Mischung für 4 Stunden bei 24° Celsius inkubiert und anschließend mit 96%igem Äthanol ausgefällt. Aus der gemessenen Radioaktivität des Präzipitates

konnte die Bindung an die Antikörper in Prozenten errechnet werden. Werte von 3-4% Bindung gelten noch als Normalwerte.

2.4.3. Blutzuckerbestimmung

Vor Beginn der Versuche wurde bei allen Tieren der Blutzucker bestimmt. Außerdem führten wir weitere Messungen 1, 4, 6, 7, und 8 Stunden nach der Insulininjektion durch. Als Bestimmungsmethode diente die Hexokinase - Methode (Boehringer Mannheim).

2.4.4. Statistik

Zur statistischen Sicherung der Unterschiede der einzelnen Gruppen wählten wir den t-Test nach Student für unverbundene Zufallsstichproben.
Die Alternativhypothese zur Nullhypothese wurde als einseitige Hypothese formuliert: ein Mittelwert ist größer als der andere.
Die Nullhypothese, "die Mittelwerte sind gleich" wird abgelehnt, wenn das errechnete Prüfmaß t gleich oder größer als die in der Tabelle für die jeweilige Irrtumswahrscheinlichkeit angegebene Signifikanzschranke ist.

Wählt man das 1p - Niveau ergeben sich folgende Werte:

Irrtumswahrscheinlichkeit	5%	1%	0,05%
Signifikanzschranke bei 7 Freiheitsgraden	1,8946	2,998	5,4995
Signifikanzschranke bei 8 Freiheitsgraden	1,8595	2,896	5,3554
Markierung in Tabellen	+	++	+++

Tab.1 Glomeruläre Gesamtzellzahl, absolute Zahl der verschiedenen glomerulären Zelltypen und ihre prozentuale Verteilung ($\bar{X}\pm S$)
S=Standardabweichung, n=Zahl der Tiere, GZ=glomeruläre Gesamtzellzahl, EZ=Endothelzellen, MZ=Mesangiumzellen, DZ=Deckzellen.

Gruppe	n	GZ	EZ		MZ		DZ	
			absolut	%	absolut	%	absolut	%
K1	5	26,7±1,36	9,7±0,85	36,3±1,98	8,5±0,74	31,6±1,51	8,3±0,34	31,6±2,12
K2	5	27,1±1,86	10,2±1,00	37,8±2,71	8,9±1,09	32,9±2,85	8,0±0,92	29,6±2,57
K3	4	29,2±2,85	8,9±0,45	30,8±2,16	11,2±2,83	39,4±3,91	8,6±0,51	29,7±2,42
V1	5	28,4±3,00	11,4±1,42	39,4±2,61	8,8±1,68	30,4±4,38	9,7±3,74	29,8±3,57
V2	5	28,6±1,72	11,2±1,15	38,7±2,46	8,7±0,74	30,1±1,10	8,6±0,41	31,2±2,77
V3	5	32,9±4,97	10,9±1,66	33,1±1,85	12,3±3,15	37,0±3,63	9,7±1,06	30,3±4,12

Tab.2 Glomeruläre Anschnittsfläche, Mesangiumfläche, glomeruläre Zelldichte, mesangiale Zelldichte, Prozentanteil des Mesangiums an der glomerulären Anschnittsfläche ($\bar{X}\pm S$).

Gruppe	Glomeruläre Fläche in μm^2	Mesangium-fläche in μm^2	Gesamtzellzahl pro 1000 μm^2	Mesangiumzell-zahl pro 100 μm^2	Mesangiumfläche in %
K1	3941±361,79	352±28,9	6,92±0,38	2,51±0,35	9,18±1,02
K2	4329±456,23	382±17,3	6,48±0,64	2,39±0,33	9,14±1,08
K3	4046±122,56	485±52,4	7,36±0,61	2,50±0,29	12,13±1,27
V1	4113±564,90	367±27,8	7,03±1,06	2,51±0,55	8,86±1,38
V2	4432±501,58	414±34,2	6,65±0,71	2,11±0,30	9,60±0,90
V3	4459±465,70	451±28,4	7,54±1,07	2,59±0,59	10,00±1,02

Tab. 3 Statistische Sicherung der Ergebnisse innerhalb der Kontrollgruppen (K1 gegenüber K3) und der Versuchsgruppen (V1 gegenüber V3).
Vergl. Punkt 2.4.4.

	K1--K3		V1--V3	
	T-Wert	Signifikanz	T-Wert	Signifikanz
GZ	1,13	0	1,72	0
EZ	1,77	0	0,45	0
EZ %	3,91	+++	4,43	+++
MZ	1,84	0	2,19	+
MZ %	3,8	+++	2,6	+
DZ	1,32	0	0,02	0
DZ %	1,25	0	0,23	0
Glomerulum Fläche	0,61	0	1,07	0
Mesangium Fläche	4,58	+++	4,72	+++
GZ/1000μm^2	1,27	0	0,76	0
MZ/100μm^2	0,31	0	0,43	0
Mes. %	3,77	+++	1,66	0
	7 Freiheitsgrade		8 Freiheitsgrade	

Zeichenerklärung siehe Tabelle 1 und 2.

3. ERGEBNISSE

3.1. Kontrolltiere

3.1.1. Morphometrische Ergebnisse

Für unsere Untersuchungen waren besonders die Veränderungen mit fortschreitendem Alter und zunehmender Diabetesdauer von Interesse. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und 2 dargestellt, die in Tabelle 3 statistisch gesichert werden.
Ein Tier der 6- Monatsgruppe entwickelte eine Amyloidose und konnte deshalb nicht morphometrisch ausgewertet werden. In den drei Kontrollgruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der glomerulären und mesangialen Zelldichte. Die Gesamtzellzahl (GZ) erhöhte sich von 26,7 ± 1,36 der Gruppe K_1 auf 29,2 ± 2,85 pro Glomerulus. Diese Zunahme konnte statistisch nicht gesichert werden. Sowohl die Zahl der Deckzellen als auch der Endothelzellen änderte sich im Zeitraum von 6 Monaten nicht. Während der Prozentsatz an Deckzellen nahezu konstant blieb (31,6 ± 2,12% und 29,7 ± 2,42%), fiel der Prozentsatz an Endothelzellen von 36,3 ± 1,98% nach einem Monat auf 30,8 ± 2,16% nach 6 Monaten. (Drei-Monatswert war 37,8 ± 2,71%)
Dieser prozentuale Abfall war begleitet von einer Steigerung der Mesangiumzellzahl von 8,5 ± 0,74 auf 11,2 ± 2,83 deren Differenz statistisch knapp unter der Signifikanzschranke lag. Hochsignifikant war dagegen die Zunahme des Prozentsatzes an Mesangiumzellen von 31,6 ± 1,51% auf 39,4 ± 3,91% während des Beobachtungszeitraumes. Während sich die absolute Glomerulusfläche nach einer anfänglichen Steigerung von 3941 ± 361,79 μm^2 auf 4329 ± 456,23 μm^2 (nach dem 3. Monat) nach 6 Monaten wieder auf den Ausgangswert einpegelte, war bei der absoluten Mesangiumfläche eine kontinuierliche Zunahme zu verzeichnen (mit p 0,005 hoch signifikant). Auch prozentual zur glomerulären Gesamtfläche ist die

Mesangiumzunahme von 9,18% auf 12,13% hochsignifikant. Zusammenfassend läßt sich über die Kontrollgruppen folgendes sagen:

- hochsignifikanter Abfall des Prozentsatzes an Endothelzellen nach 6 Monaten begleitet von einem hochsignifikanten
- Anstieg des Prozentsatzes an Mesangiumzellen und nicht signifikantem Anstieg der Mesangiumzellzahl
- hochsignifikante Zunahme der absoluten Mesangiumfläche und des Prozentanteils des Mesangiums an der glomerulären Gesamtfläche.

Diese Ergebnisse lassen sich als Zunahme der absoluten und relativen Mesangiumfläche bei gleichzeitiger Mesangiumzellproliferation interpretieren.

3.1.2. Der Blutzuckerspiegel

war bei Versuchsbeginn mit 176,4 ± 19,7 mg/100 ml deutlich erhöht. Die Normwerte liegen nach BRUNK (1971) bei 107 ± 6 mg/100 ml.

3.1.3. Antikörperspiegel

Die Kontrolltiere bildeten keine Insulinantikörper.

Kontrolle 1 Monat K1		Kontrolle 6 Monate K6	
Tier	% Bindung	Tier	% Bindung
1	0	1	4
2	0	2	1
3	0	3	1
4	0	4	2
5	0	5	1

3.2. Versuchstiere

3.2.1. Morphometrische Ergebnisse (Tab. 1, 2 und 3)

Das Verhältnis von Flächenwachstum und Zellproliferation, d.h. die glomeruläre und mesangiale Zelldichte zeigten während der Behandlung keine signifikanten Unterschiede. Die Erhöhung der Gesamtzellzahl von 28,4 ± 3,0 auf 32,9 ± 4,97 war statistisch nicht signifikant. Nach 6-monatiger Behandlung registrierten wir keine Änderung der Deck- und Endothelzellzahl. Ebenso blieb der 1- Monatswert des Prozentanteils der Deckzellen von 29,8 ± 3,57% nahezu konstant bis Versuchsende (30,3 ± 4,12%). Hochsignifikant nahm der prozentuale Endothelzellanteil nach 6 Monaten von 39,4 ± 2,6% (V_1) auf 33,1 ± 1,85% ab. (Drei- Monatswert war 39,4 ± 2,6%) Der Grund dafür war bei konstant bleibender Deckzellzahl die signifikante Zunahme der Mesangiumzellen von 9,8 ± 1,68 auf 12,3 ± 3,15 und gleichzeitiger signifikanter Steigerung des prozentualen Mesangiumzellenanteils von 30,4 ± 4,38% auf 37,0 ± 3,63%. Bei der absoluten Glomerulusfläche ist die Steigerung von 4113 ± 564,90 μm^2 auf 4459 ± 465,7 μm^2 im Vergleichsraum vom ersten bis sechsten Monat nicht signifikant. Dagegen war die absolute Mesangiumfläche von 451 ± 28,4 μm^2 nach 6 Monaten Behandlung hochsignifikant höher als der Einmonatswert (367 ± 27,83 μm^2). Keine signifikante Änderung trat beim prozentualen Mesangiumflächenanteil auf.

Zusammenfassend konnten wir folgendes beobachten:

- Einen hochsignifikanten Abfall (p=0,005) des Prozentsatzes an Endothelzellen nach 6 Monaten begleitet von einem
- signifikanten Anstieg (p=0,05) des Prozentsatzes an Mesangiumzellen und ebenfalls signifikanten Anstieg der Mesangiumzellzahl.
- Weiter beobachteten wir eine hochsignifikante Zunahme

Abb.1 BLUTZUCKER $\bar{X} \pm S$ in Abhängigkeit von der Zeit nach der letzten Injektion von 2IE MC-Insulin

1 Stunde nach der Inj.	40,00 ± 13,89 mg/100 ml	n= 3
4 Stunden " " " "	78,83 ± 7,68 mg/100 ml	n= 6
6 " " " " "	152,30 ± 38,80 mg/100 ml	n=23
7 " " " " "	169,17 ± 29,80 mg/100 ml	n= 6
8 " " " " "	156,10 ± 43,12 mg/100 ml	n=32

n= Anzahl der Glucosebestimmungen

der absoluten Mesangiumfläche, die aber nicht begleitet war von einer Steigerung des Prozentanteils des Mesangiums an der glomerulären Gesamtfläche, da die absolute Glomerulusfläche auch zunahm.

Diese Ergebnisse lassen sich als Zunahme der a b s o l u t e n nicht aber der relativen Mesangiumfläche bei gleichzeitiger geringfügiger Mesangiumzellproliferation interpretieren.

3.2.2. Blutzuckerspiegel Abb. 1

Aus der Beobachtung der Blutzuckerwerte läßt sich die Wirksamkeit der Insulintherapie zeigen:
Nach der Gabe von 2IE MC- Insulin erreichten wir schon nach einer Stunde eine Blutzuckersenkung auf 40 ± 13,9 mg/100 ml. Auch nach 4 Stunden lagen die Werte mit $\bar{x}$ = 78,8 mg/100 ml noch deutlich unter der Norm von 107 ± 6 mg/100 ml. 5 Stunden nach der Injektion überschritten die Werte den Normbereich und lagen bis zur 6. Stunde nach der Injektion signifikant unter dem Ausgangswert, der nach 7 Stunden fast wieder erreicht wurde. Die Wirkung des Insulins dauerte folglich etwa 6-7 Stunden.

3.2.3. Antikörperspiegel

Wie aus der untenstehenden Tabelle hervorgeht, fanden wir bei den behandelten Tieren einen Anstieg der Insulinantikörper.
Nach einem Monat Insulinbehandlung wurden durchschnittlich 10,5 ± 7,72% des hinzugefügten radioaktivmarkierten Insulins gebunden. Der Wert nach 6 Monaten war mit 32,8 ± 17,1% wesentlich höher als nach einem Monat Behandlung.

Versuch 1 Monat V1		Versuch 6 Monate V6	
Tier	% Bindung	Tier	% Bindung
		1	62
[illegible]	[illegible]	2	22
3	15	3	34
4	19	4	25
5	9	5	21
	$\bar{X}$: 10,5 S: $\pm$ 7,72		$\bar{X}$: 32,8 S: $\pm$ 17,1

3.3. Vergleich zwischen behandelten und unbehandelten Gruppen

3.3.1. Morphometrie Tabelle 4

Nach einem Monat bestehen zwischen den Glomeruli der Insulintherapierten und der Kontrollen folgende Unterschiede: (Tabelle 4 : $V_1 - K_1$)

- die Endothelzellzahl ist mit 11,4 $\pm$ 1,42 bei den behandelten Tieren signifikant höher als bei den Kontrolltieren, die lediglich 9,7 $\pm$ 0,85 Endothelzellen aufweisen.
- Ebenso fanden wir den prozentualen Endothelzellenanteil bei den einen Monat lang behandelten Tieren gegenüber den Kontrolltieren erhöht.
- Alle anderen Werte zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Drei Monate nach Behandlungsbeginn Tabelle 4 ($V_2 - K_2$) ist der prozentuale Mesangiumzellenanteil bei den unbehandelten Tieren signifikant höher. Auffallend war die signifikant größere absolute Mesangiumfläche der behandelten Tiere, bei gleichzeitig größerer glomerulärer Gesamtfläche. Dagegen war der prozentuale Anteil des Mesangiums an der Gesamtfläche mit 9,6% bei den be-

Tab.4 Morphometrievergleich zwischen den behandelten Gruppen und den entsprechenden Kontrollgruppen (V1gegenüber K1,V2gegenüber K2,V3 gegenüber K3).

	V1--K1		V2--K2		V3--K3	
	T-Wert	Signifikanz	T-Wert	Signifikanz	T-Wert	Signifikanz
GZ	1,19	0	1,36	0	1,40	0
EZ	2,27	+	1,47	0	2,61	+
EZ %	2,14	+	0,55	0	1,66	0
MZ	0,37	0	0,40	0	0,58	0
MZ %	0,55	0	2,02	+	0,95	0
DZ	0,88	0	1,29	0	1,95	+
DZ %	0,99	0	0,96	0	0,29	0
Glomerulum-fläche	0,57	0	0,34	0	1,92	+
Mesangium-fläche	0,84	0	1,90	+	1,15	0
GZ/1000μm^2	0,22	0	0,40	0	0,32	0
MZ/100μm^2	0,27	0	1,43	0	0,28	0
Mesangium %	0,42	0	0,73	0	2,54	+
	8 Freiheitsgrade		8 Freiheitsgrade		7 Freiheitsgrade	

handelten Tieren gegenüber 9,14% bei den Kontrolltieren leicht aber nicht signifikant erhöht. Die 6 Monate behandelten Tiere unterschieden sich von der entsprechenden Kontrollgruppe (Tabelle 4 : V_3 - K_3) in folgenden Werten:

- Die Endothel- mit 10,9 ± 1,66 und die Deckzellen mit 9,7 ± 1,06 Zellen waren bei den behandelten Tieren im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikant erhöht.
- Gleichfalls fanden wir bei der behandelten Gruppe eine mit 4459 ± 465,7 μm^2 signifikant größere Glomerulusfläche, die bei der Kontrollgruppe 4046 ± 122,56 μm^2 groß war. Diese größere Glomerulusfläche erklärt auch den Anstieg der absoluten Deck- und Endothelzellen, deren prozentuale Verteilung keinen Unterschied aufwies.
- Die Mesangiumfläche von 451 ± 28,4 μm^2 der signifikant größeren Glomeruli bei den mit MC- Insulin behandelten Tieren war zwar niedriger als die der Kontrollgruppen (485 ± 52,4 μm^2) der Unterschied konnte aber statistisch nicht gesichert werden.
- Als signifikant stellte sich der Unterschied des prozentualen Mesangiumflächenanteils heraus.

Während die Mesangiumfläche der Kontrolltiere 12,13 ± 1,27% der Gesamtfläche ausmachte, fanden wir bei der MC- Gruppe lediglich 10,0 ± 1,02% nach 6-monatiger Behandlung.
Glomeruläre und mesangiale Zelldichte zeigten keine Veränderungen.

3.3.2. Antikörperspiegel

Bei den behandelten Tieren stiegen die Werte der Insulinbindung von 10,5% ± 7,72% nach einem Monat auf 32,8% ± 17,1% nach 6 Monaten.

4. DISKUSSION

Wenn wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammenfassen, so ergibt sich folgendes:

1. Bei den unbehandelten KK- Mäusen nach 6 Monaten eine signifikante Zunahme der absoluten und relativen Mesangiumfläche. Der Prozentsatz an Mesangiumzellen stieg ebenfalls signifikant, während der Prozentsatz an Endothelzellen signifikant abnahm.
2. Bei den mit Monocomponent - Insulin behandelten Versuchsgruppen nach 6 Monaten Behandlung eine signifikante Zunahme der a b s o l u t e n Mesangiumfläche, während die r e l a t i v e Mesangiumfläche keine signifikante Steigerung aufwies. Der Prozentsatz an Mesangiumzellen und die Mesangiumzellzahl nahmen nach 6 Monaten Behandlung signifikant zu, während der Prozentsatz an Endothelzellen signifikant abnahm.
3. Im Vergleich zwischen behandelten und unbehandelten Tieren ergab sich nach 6 Monaten bei den behandelten Tieren eine signifikant größere glomeruläre Anschnittsfläche, die die ebenfalls signifikant erhöhten absoluten Endothelzell- und Deckzellzahl erklärt und ebenso die erhöhte Gesamtzellzahl bei den behandelten Tieren. Trotz größerer Glomerulusflächen war die absolute Mesangiumfläche bei den behandelten Tieren nicht größer als bei den entsprechenden Kontrolltieren.
   Daher war die relative Mesangiumfläche nach 6 monatiger Behandlung signifkant niedriger.
   Mit der Insulinbehandlung konnten wir die erhöhten Blutzuckerspiegel bis etwa 7 Stunden nach Injektion wirksam senken. Bis 5 Stunden nach Injektion lagen die Blutzuckerspiegel im Normbereich.
   Der Antikörperspiegel der behandelten KK- Mäuse war nach 6 Monaten signifikant erhöht.

Aus den obengenannten Ergebnissen geht hervor, daß die Behandlung mit Monocomponent Insulin (= MC- Insulin) die Entwicklung glomerulärer Läsionen mindert. Zwar nehmen sowohl bei den Kontrollgruppen als auch bei den Versuchsgruppen der prozentuale Anteil der Mesangiumzellen im Laufe des Beobachtungszeitraumes signifikant zu, doch unterscheiden sie sich in ihrer quantitativen Ausprägung. Nach 3 Monaten ist der prozentuale Anteil der Mesangiumzellen bei den Kontrolltieren signifikant höher. Die Steigerung der prozentualen Mesangiumzellen ist bei den 6 Monaten behandelten Tieren niedriger als bei den Kontrolltieren. Am eindeutigsten läßt sich der Therapieeinfluss anhand der relativen Mesangiumfläche nachweisen, die bei den behandelten Tieren nach 6 Monaten signifikant niedriger war.
Somit können wir sagen, daß eine Senkung der erhöhten Blutzuckerwerte durch die Behandlung mit Monocomponent Insulin zu geringeren morphologischen Veränderungen der Glomeruli führt, d.h. eine frühzeitig einsetzende weitgehende Normalisierung des Kohlenhydratstoffwechsels verhindert in hohem Maße das Entstehen glomerulosklerotischer Veränderungen.

Die oben genannten Ergebnisse, die wir an unseren Kontrollen erhoben haben, decken sich weitgehend mit den von anderen Autoren (Camerini-Davalos 1970, Oppermann 1973, Duhault 1973 s. oben) beschriebenen Veränderungen an KK- Mäusen. Vergleicht man unsere Werte mit denen anderer Untersucher, die die gleiche morphometrische Methode anwandten, (Wehner et al. 1978) so lassen sich bei Betrachtung der signifikanten Parameter lediglich folgende Differenzen finden: Während in Untersuchungen von 1978 der Anstieg der Mesangiumzellzahl sich statistisch belegen ließ, lag die Erhöhung dieses Zahlenwertes bei unserer Untersuchung nur knapp unter der Signifikanzschranke. Der Beobachtungszeitraum betrug bei der Studie von 1978 nur 3 Monate, in unserer jetzigen

Studie dagegen 6 Monate. Bei unseren Kontrollgruppen nahm der Prozentsatz an Endothelzellen nach 6 Monaten signifikant ab. Wie können wir den hochsignifikanten Abfall des Prozentsatzes an Endothelzellen, der von einem hochsignifikanten Anstieg des Prozentsatzes an Mesangiumzellen begleitet war interpretieren? Eine erhöhte Gesamtzellzahl nach 6 Monaten – wenn auch statistisch nicht gesichert – bei gleichbleibender Gesamtfläche, gleichbleibenden absoluten Endothel- und Deckzellzahl, kann nur durch eine Zunahme der absoluten Mesangiumzellzahl erklärt werden. Aus diesem Grunde und wegen des knapp unter der Signifikanzschranke liegenden Anstiegs der absoluten Mesangiumzellzahl bei gleichzeitig steigendem Prozentanteil der Mesangiumzellen können wir die Ergebnisse als Zeichen einer Mesangiumzellproliferation mit Zunahme der absoluten und relativen Mesangiumfläche interpretieren.
Diese von uns im Tierversuch beobachteten glomerulären Läsionen lassen sich damit mit den von Kimmelstiel und Wilson 1936 erstmals als "diabetische interkapilläre Glomerulosklerose" beschriebenen Nierenveränderungen vergleichen.

Wenn wir die Ergebnisse der behandelten Tiere mit früheren Untersuchungen vergleichen, ergeben sich folgende Resultate. Wehner et al. (1978) führten ebenfalls mit KK- Mäusen kurzzeitige MC- Insulin- Behandlungsversuche durch. Sie fanden bei einer Versuchsdauer von 3 Monaten keine Zunahme der Mesangiumzellen bei den behandelten Tieren. In unseren Versuchen kamen wir nach 3 Monaten zu ähnlichen Ergebnissen. Bei den behandelten Tieren beobachteten wir eine signifikant niedrigere relative Mesangiumzellzahl als bei den Kontrolltieren. Innerhalb der behandelten Versuchsgruppen registrierten wir zwar nach 6 Monaten eine Zunahme der relativen Mesangiumzellzahl, diese war aber signifikant niedriger als die der Kontrolltiere.

Ebenfalls vergleichen mit Wehner et al. (1978) läßt sich die signifikante niedrigere relative Mesangiumfläche bei den behandelten Tieren. Während Wehner et al. schon nach 3 Monaten Beobachtungszeitraum eine signifikant niedrigere relative Mesangiumfläche bei den MC-behandelten Tieren fanden, konnten wir diese Veränderungen erst nach 6 Monaten beobachten. In unserer Studie waren die glomerulären Anschnittsflächen der 6 Monate behandelten Tiere signifikant größer als die der Kontrollgruppe.
Wie können wir diese geringen Differenzen erklären? Methodisch unterschied sich unsere Studie von Wehner et al. 1978 nur durch:
- Unterschiedliche Insulinpräparate,
- unterschiedliche Blutzuckerspiegel und durch eine
- unterschiedliche Behandlungsdauer.

Während Wehner et al. MC- Semilente Schweine- Insulin einsetzten, führten wir unsere Behandlungsversuche mit MC- Monotard Schweine- Insulin durch. Semilente Insulin ist eine Insulin- Zink- Suspension von amorphem Schweineinsulin, das von uns eingesetzte Insulin Monotard eine Insulin- Zink- Suspension von 30% amorphem und 70% kristallinem Schweineinsulin. Beide Präparate besitzen eine neutrale Reaktion. Unterscheiden sich diese hochgereinigten, mit geringer immunogener Wirkung ausgezeichneten Insuline quantitativ in ihrer immunogenen Wirkung, und können wir damit die erhöhten Antikörperspiegel und die verzögerte Besserung der morphologischen Nierenveränderungen erklären?

Erklärbar wäre eine stärkere immunogene Wirkung unseres Präparates Monotard durch die unterschiedliche physikalische Zusammensetzung. Während das frühere von Wehner et al. untersuchte Insulinpräparat Semilente nur aus amorphem Insulin bestand, wurde unser Insulin aus amorphem und kristallinem Insulinen zubereitet. Kumar et al. (1974) konnten in einer Untersuchung mit

Schweine- Monocomponent- Insulin an Kaninchen Insulinantikörper nachweisen. Sie gaben gleichzeitig Freud'sches Adjuvans und führten die Antikörperbildung auf den physikalischen Zustand ihres Insulins zurück. Diese Untersuchungsergebnisse widersprachen den von Schlichtkrull et al. (1974) beobachteten Ergebnissen. Er fand mit MC- Insulin vom Schwein, bei gleichzeitiger Gabe von inkompletten Freud'schen Adjuvans, beim Kaninchen keine nachweisbaren Antikörperspiegel. Während unsere KK- Mäuse einen Diabetes mellitus entwickeln, war der Glucose-Stoffwechsel bei den obengenannten Kaninchen nicht gestört. In der Untersuchung von Schlichtkrull et al. (1974) wurden am Kaninchen lösliches MC- Insulin vom Schwein (Actrapid) nicht aber andere spezielle pharmazeutische Zubereitungen zB. Monotard- oder Semilente- Insulin getestet. Auch nach jahrelanger Lagerung des MC- Insulins Actrapid konnte er beim Versuchstier keine Antikörperbildung nachweisen.
In der oben erwähnten Studie von Schlichtkrull führte MC- Insulin bei Patienten mit einem insulinbedürftigen Diabetes, denen vorher noch niemals Insulin injiziert worden war, nicht oder in nur geringem Maß zur Antikörperbildung. Da es sich bei den Versuchen dieser Autoren um Kaninchen und Patienten handelte, können wir unsere Antikörperergebnisse nicht exakt vergleichen. Außerdem war der Beobachtungszeitraum für die Antikörperbildung bei Schlichtkrull mit 100 Tagen und bei Wehner et al. (1978) mit 8 Wochen wesentlich kürzer als bei unseren Versuchen.
Zusammenfassend können wir bei unseren Untersuchungen eine Steigerung des Antikörperspiegels erwähnen. Eine etwas stärkere immunogene Wirkung der kristallinen Insuline läßt sich nur vermuten, da wir unsere Antikörperspiegel mit den von Wehner et al. (1978) beobachteten Werten wegen der unterschiedlichen Bestimmungsmethode nicht direkt vergleichen können. Insgesamt ist jedoch die Antikörperbildung offenbar so

gering, daß sie nicht zu einer Reaktion des Mesangiums führte, da die relative Mesangiumfläche bei den behandelten Tieren keine signifikante Steigerung aufwies.

Wehner et al. (1978) erreichten in ihrer Studie eine etwas bessere Blutglucoseeinstellung. Aus pharmakokinetischen Gründen betrugen die Blutzuckerspiegel bei unseren Tieren 6 Stunden nach Injektion im Mittel 152,3 ± 39 mg/100 ml, während Wehrer et al. lediglich einen Mittelwert von 64 ± 20,5 mg/100 ml nach 6 Stunden fanden. In einer früheren Untersuchung an KK- Mäusen konnten Wehner et al. (1972) eine signifikante Korrelation zwischen der Hyperglykämie und der Mesangiumverbreiterung nachweisen. Wir könnten folglich die morphologischen Differenzen zwischen unserer und der von Wehner et al. (1978) durchgeführten Versuche auf eine schlechtere metabolische Stoffwechsellage unserer Tiere zurückführen.

Als weiteren methodischen Unterschied zu Wehner et al. (1978) wurde oben der unterschiedlich lange Beobachtungszeitraum genannt. Nach Camerini-Davalos et al. (1970) ist bei KK- Mäusen die Insulinkonzentration dreimal so hoch wie bei Normaltieren mit maximalen Werten im Alter von 12 Monaten. Schon im Alter von 4 Monaten fanden sie erhöhte Insulinkonzentrationen im Serum von KK- Mäusen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Oppermann et al. (1973), die bei KK- Mäusen schon im Alter von 2 Monaten erhöhte Insulinspiegel messen konnten und häufiger schwere glomeruläre Veränderungen fest stellten, wenn das immunreaktive Insulin hoch war. Wenn wir KK- Mäuse länger als 3 Monate beobachten, so müssen wir zwangsläufig höhere Insulinspiegel in Kauf nehmen. Diese erhöhten Insulinspiegel könnten ein Zeichen der verminderten Ansprechbarkeit peripherer Gewebe (Muskulatur, Fettgewebe oder Leber) gegenüber Insulin sein. (Stauffacher et al. 1970) Diese Hypothese wird auch

durch eine Untersuchung von Kern et al. (1975) bestätigt, die bei KK- Mäusen eine Abnahme der Insulinbindung an Leberzellmembranen messen konnten. Wenn wir die Hypothese der verminderten peripheren Ansprechbarkeit gegenüber Insulin annehmen und die von den oben genannten Autoren beobachteten erhöhten Insulinspiegel als Zeichen der abnehmenden Insulinwirkung werten, ergibt sich für unsere Behandlungsversuche eine Einschränkung der Therapie mit Insulin. Damit hätten wir eine weitere Erklärung für unsere – im Vergleich zu Wehner et al. (1978) – etwas "schlechteren" Ergebnisse.

Welche Bedeutung haben die Ergebnisse unserer Untersuchungen, die an KK- Mäusen durchgeführt wurden, für die menschliche diabetische Glomerulosklerose?
Wir wissen zwar, daß die Diabetiker zu vaskulären Komplikationen neigen, aber können immer noch nicht die Frage nach den Ursachen der Mikroangiopathie beantworten. Verlaufskontrollen bei diabetischen Patienten sind nicht zuletzt wegen der erforderlichen mehrmaligen Nierenbiopsien kaum durchführbar. Daher versuchten wir wie viele andere Untersucher unsere Fragen mit Tierversuchen zu beantworten. Als besonders geeignet erwiesen sich in mehreren Versuchsreihen die auch von uns verwendeten KK- Mäuse. Sie entwickeln mit zunehmendem Alter der menschlichen diabetischen Glomerulosklerose ähnliche Nierenveränderungen. Diese lassen sich mit den von Kimmelstiel - Wilson (1936) erstmals als "diabetische interkapilläre Glomerulosklerose" beschriebenen Veränderungen vergleichen.

Bei den KK- Mäusen handelt es sich um einen genetisch diabetischen Inzuchtstamm, der 1957 von Kondo aus japanischen Mäusen gezüchtet wurde.
Charakteristisch für diesen Stamm sind eine diabetische Stoffwechsellage, Glukosurie, Polyurie und eine Polyphagie. Diese Merkmale wurden von Nakamura 1967 be-

schrieben. Schon 1962 beschrieb er zum ersten Mal das diabetische Syndrom bei KK- Mäusen und verglich die pathologischen Veränderungen mit dem menschlichen Diabetes.
Camerini-Davalos (1970) fand signifikant höhere Blutzuckerwerte nach oraler Glucosebelastung bei KK- Mäusen als bei Kontrolltieren. In 47% der Tiere bestand eine interkapilläre Glomerulosklerose. Sie war gekennzeichnet durch eine Zunahme der Mesangiummatrix. Ebenso beobachtete er noduläre Veränderungen des Mesangiums und exsudative Läsionen. Diese Zunahme der Mesangiummatrix wurde auch bei normalen Tieren beobachtet, waren aber weniger ausgeprägt. Die nodulären Veränderungen waren eher am Hilus als in der Peripherie der Glomeruli zu finden. Der Insulingehalt des Serums war dreimal so hoch wie bei Normaltieren.
Oppermann (1973) fand bei 77% der KK- Mäuse in verschiedenen Altersklassen eine Glomerulosklerose, konnte aber keine Korrelation zwischen der Abnahme der Glucosetoleranz und der Inzidenz der Glomerulosklerose finden.
Auch Duhault (1973) fand bei KK- Mäusen histologische Nierenläsionen, die Ähnlichkeit mit der menschlichen diabetischen Glomerulosklerose hatten und bewertete die spontandiabetischen Tiere als nützliches Modell für die diabetische Mikroangiopathie.
Wehner und Höhn (1971) führten quantitativ morphologische Analysen an Glomeruli genetischer KK- Mäuse und menschlichen Diabetikernieren durch. Sie beobachteten sowohl bei menschlichen Diabetikern als auch bei den diabetischen Mäusen eine signifikante Vermehrung des Mesangiumvolumens. Im Vergleich mit normalen Tieren kam es zu einer Proliferation von intrakapillären Zellen, während die Deckzellen abnahmen. Die gleichen Veränderungen traten auch an den menschlichen Diabetikernieren auf.
Die Mesangiumverbreiterung wurde bei menschlichen Diabetikern von Kimmelstiel (1968), Bloodworth (1971),

Dachs (1964) und von Sorger (1977) als eindeutiges Kriterium der diabetischen Glomerulosklerose herausgestellt.
Einige Untersucher entdeckten bei der menschlichen diabetischen Glomerulosklerose als weiteren Befund eine Vermehrung der Mesangiumzellen. Den quantitativ morphologischen Nachweis erbrachten Iidaka et al. (1968), Kawano et al. (1969) und Wehner et al. (1970, 1971, 1974, 1977).
Auch bei unseren unbehandelten Kontrolltieren konnten wir im Verlauf von 6 Monaten eine Zunahme der absoluten und relativen Mesangiumfläche bei gleichzeitiger Mesangiumzellproliferation registrieren. Die morphologischen Ergebnisse unserer Untersuchungen an KK-Mäusen deuten darauf hin, daß der Verlauf der diabetischen Glomerulosklerose durch gute Stoffwechseleinstellung mit hochgereinigtem MC- Insulin günstig beeinflusst wird. Daraus ergeben sich auch therapeutische Ansätze. Der günstige Einfluss einer guten Stoffwechselkontrolle auf Entwicklung und Verlauf der diabetischen Mikroangiopathie ist heute unumstritten.

Wie in der Einleitung erwähnt, wurden bisher als Ursache der diabetischen Glomerulosklerose der gestörte Stoffwechsel (metabolische Theorie), hormonelle und genetische Faktoren und Immunprozesse diskutiert.

Unsere Befunde sprechen der METABOLISCHEN THEORIE eine große Bedeutung zu. Bei den mit Insulin behandelten Tieren (mit niedrigerem Blutzuckerspiegel) beobachteten wir geringere glomerulosklerotische Veränderungen als bei den unbehandelten Tieren. Eine Reihe von tierexperimentellen und klinischen Befunden sprechen für die metabolische Theorie. Bei experimentell erzeugtem Diabetes kommt es in Abhängigkeit von der Diabetesdauer und der Qualität der Stoffwechselführung zum Auftreten einer diabetischen Glomerulosklerose. (Østerby 1967, Bloodworth und Engermann 1973) Besonders beweiskräftig für die metabolische Therorie sind die Ergebnisse von Transplantationsversuchen. Eine Verpflanzung von Nieren Streptozotocin-diabetischer Ratten in gesunde Tiere ergab eine Rückbildung der glomerulosklerotischen Veränderungen in den transplantierten Nieren (Lee et al. 1974). Mauer et al. (1975) führten bei Ratten mit Streptozotocin-induziertem Diabetes mellitus Pankreastransplantationen durch, die in ein bis drei Wochen zu normalen Glucose- und Insulinspiegeln führten. In den von ihnen nach der Transplantation durchgeführten Biopsien fanden sie eine signifikante Abnahme der Mesangiumverbreiterung. Während sie vor der Transplantation durch Immunfluoreszenzmikroskopie einen erhöhten Immunglobulingehalt des Mesangiums nachweisen konnten, ergab die gleiche Untersuchungsmethode bei den transplantierten Tieren nach 9 Wochen nur noch einen minimalen Gehalt an Immunglobulinen. (Auf die immunologischen Probleme werden wir an anderer Stelle eingehen.)
Nach Fox et al. (1977) spielt die durch den Insulinmangel bedingte Hyperglykämie eine wichtige Rolle in

der Entstehung der diabetischen Glomerulosklerose. Sie fanden – ebenfalls an Ratten mit Streptozotocin- induziertem Diabetes mellitus – eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Breite der Basalmembran der glomerulären Kapillaren und dem Blutzuckerspiegel. Spiro (1976) erklärt die Verdickung der Basalmembran als Folge einer Überproduktion von Basalmembran- Material. Da die vorwiegend aus Glykoprotein bestehende Basalmembran zur Synthese ihrer Kohlenhydratkomponente kein Insulin benötigt, könnte in Abhängigkeit vom Grad der Hyperglykämie die Glucose bei Diabetikern vermehrt zur Glykoproteinbildung herangezogen werden. Gestützt wird diese Theorie durch Untersuchungen bei Tieren (Spiro et al. 1971) und bei Diabetikern mit erhöhten Blutzuckerwerten (Camerini-Davalos 1977), die eine gesteigerte Aktivität der Glykosyltransferase ergaben.

Aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen schließen wir, daß die Hyperglykämie als Ursache der diabetischen Glomerulosklerose die größte Bedeutung besitzt. Die mit MC- Insulin behandelten Tiere zeigten geringere diabetische Nierenveränderungen als die Kontrolltiere.

Auch dem Wachstumshormon wurde eine mögliche Rolle bei der diabetischen Mikroangiopathie zugeschrieben. Diese WACHSTUMSHORMON - HYPOTHESE wurde vor allem von Lundbaek (1971, 1977) vertreten. Er konnte bei juvenilen diabetischen Patienten, die als gut eingestellt galten, "erhöhte und schwankende Plasmawachstumshormonkonzentrationen" finden (1970). Diese erhöhten Wachstumshormonspiegel bei Diabetikern und kontrollierte Untersuchungen über den günstigen Einfluss der Hypophysektomie auf die Progredienz der diabetischen Retinopathie waren die Grundlage dieser Wachstumshormonhypothese. Unterstützt wird diese Hypothese durch Beobachtungen an KK-Mäusen. Nach Nakamura et al. (1967) ist die Hypophyse der KK- Mäuse im Vergleich zu Kontrolltieren vergrößert

und der Wachstumshormongehalt erhöht.

Als Begründung für eine GENETISCHE URSACHE der diabetischen Mikroangiopathie wurden Befunde wie Basalmembranverdickungen bei Prädiabetikern herangezogen. Oppermann et al. (1973 a) betrachten die Mikroangiopathie bei KK- Mäusen als Bestandteil des vererbten diabetischen Syndroms. Er kreuzte KK- Mäuse mit gesunden Tieren (1973 b) und fand bei normalem Stoffwechsel glomerulosklerotische Veränderungen. Bloodworth (1973) widerspricht der genetischen Theorie, da man die diabetischen Gefäßveränderungen auch durch einen experimentellen Diabetes mellitus im Tierversuch beobachten kann.

Die Entstehung der diabetischen Mikroangiopathie auf Grund von IMMUNREAKTIONEN wurde vermutet, als man bei histologischen Untersuchungen mit fluoreszierenden Antikörpern Immunkomplexe in den Glomeruli diabetischer Versuchstiere (Mauer et al. 1975) und diabetischer Patienten (Wehner und Gärtner 1977 a) nachweisen konnte, und eine Immunisierung mit Insulin auch ohne diabetische Stoffwechsellage bei Versuchstieren eine Glomerulosklerose erzeugen konnte. Fuchs et al. (1973) fanden bei Hunden nach Insulingaben glomerulosklerotische Veränderungen, deren Qualität eine direkte Abhängigkeit von der Höhe des Insulin-Antikörpertiters erkennen ließ. Wehner und Mitarbeiter (1970 c) fanden bei Meerschweinchen nach Gaben von handelsüblichem Rinderinsulin steigende Antikörpertiter und beobachteten Veränderungen der Glomeruli, "die morphologisch an die noduläre diabetische Glomerulosklerose erinnern". Ähnliche Veränderungen fanden auch Grieble (1960), Mohos et al. (1963).

So stellte sich die Frage, inwieweit das Insulin bzw. Insulinantikörper für diese Läsionen verantwortlich

sind. Durch die von Berson et al. (1956) eingeführten radioimmunochemischen Methoden, wurde die Bestimmung von Insulin-Antikörpern zum ersten Mal ermöglicht. Berson und Yalow (1964) konnten bei nahezu allen mit Insulin behandelten Patienten Insulin-Antikörper im Serum nachweisen. Als ursächliche Faktoren für die Bildung von Insulin-Antikörpern kommen in Frage:

- das Hormon selbst,
- die aus dem Tierpankreas stammenden Begleitsubstanzen.
- Begleitstoffe in Form von Depotsubstanzen, Pufferkomponenten, Denaturierungsprodukte und die
- Behandlungstechnik.

Das Hormon als selbständiges Antigen ist noch heute umstritten, da die Abtrennung von Begleitstoffen sehr schwierig ist. Beim Menschen besitzt Rinderinsulin mehr antigene Wirkung als Schweineinsulin. Die Spezies scheint aber nicht die einzige Erklärung für die unterschiedliche Antigenität zu sein, da sogar die Injektion von menschlichem Insulin beim Menschen Antikörper gegen das homologe Insulin erzeugen kann (Deckert et al. 1972). Nach Schlichtkrull (1970) besitzt das reine (MC) Insulin keine Antigenität, die immunogene Wirkung der Insulinpräparate ist allein durch die Verunreinigungen bedingt. Das Interesse an größermolekularen Begleitstoffen von Insulinpräparaten wurde mit der Entdeckung des Proinsulins als isolierbare Fraktion von extrahiertem Insulin geweckt (Steiner et al. 1967, 1968). Das Proinsulin reagiert immunologisch fast genau wie Insulin, besitzt aber eine biologische Aktivität von weniger als 1%. Durch Säulenchromatographie lassen sich von kristallinem Insulin drei Fraktionen (a,b,c,) isolieren (Steiner et al. 1968). Jede dieser Komponenten besteht aus einer großen Zahl von Peptiden und Proteinen, die teils zu den Vorstufen des Insulins gehören, teils aus den exokrinen Pankreaszellen stammen. Über die großmolekulare a-Fraktion ist wenig bekannt. Eventuell enthält sie Bestandteile aus dem exokrinen Pankreas. Zu

den Fraktionen der b-Komponente gehören Proinsulin, Insulinintermediate und Insulin-Dimer. Die c-Fraktion enthält neben dem echten Sanger-Insulin Desamido-Insuline, Arginin- und Diargininsuline sowie Insulin-Äthylester. Wenn auch Begleitkomponenten der c-Fraktion durch Jonenaustauschverfahren entfernt werden, verbleibt nur noch ein sogenanntes Monocomponent-Insulin, das nicht mehr oder fast nicht mehr immunogen ist. (Schlichtkrull et al. 1970 a) Durch Zufuhr aus Rinderinsulin isolierter a-Fraktion konnte bei Kaninchen insulinbindende Antikörper erzeugt werden (Schlichtkrull 1970 b). Wehner et al. (1973, 1977) beobachteten an Kaninchen nach Gabe von a- und b-Komponenten erhöhte Antikörperspiegel und morphologische Veränderungen der Basalmembran (1973) und des Mesangiums (1977 b), während sie durch Gabe von MC- Insulin keine erhöhten Insulinantikörper messen konnten. Die bisher genannten Untersuchungen, die den Nachweis für eine geringe Immunogenität der MC- Insuline erbracht haben, waren durchweg mit Tieren durchgeführt worden. Tierexperimentelle Befunde variieren erheblich mit der Tierspezies und sind insofern für die Bedeutung der Insulinimmunogenität beim Menschen nur bedingt zu interpretieren. Wegmüller und Frankenhauser (1970) verglichen die Insulinantikörper von Diabetikern unter Behandlung mit handelsüblichen Insulinen und mit MC- Insulinen, wobei chromatographisch gereinigtes Schweineinsulin die geringste Immunogenität aufwies. Doch fanden sie bei 2 von 5 Patienten der MC- Insulingruppe einen deutlichen Titeranstieg. In weiteren klinischen Untersuchungen von Korp und Levett (1973), Serrano et al. (1974), Andreani et al. (1974) und Teuscher (1975) wurde die geringere Immunogenität der MC- Insuline bestätigt.

Welche Bedeutung besitzen Stabilisatoren und Depothilfsstoffe im Hinblick auf die Antikörperbildung? Es liegt nahe, anzunehmen, daß lösliche Antigene die Immunant-

wort des Organismus weniger stimmulieren als schwer lösliches Antigenmaterial. Deckert und Grundahl (1970) zeigten, daß eine Behandlung von nicht diabetischen Patienten mit neutralen Lösungen eines kristallinen Schweineinsulins nicht zur Antikörperbildung führte, während mit sauren Insulinpräparaten Antikörper erzeugt wurden. Es wird vermutet, daß die vermehrte Immunogenität von Insulinpräparaten mit saurem pH durch einen Depoteffekt bzw. die Präzipitation des Insulins an der Injektionstelle bedingt sein kann.

In unseren Versuchen zeigte das MC- Insulin eine geringe immunogene Wirkung, das heißt innerhalb der Beobachtungszeit entwickelten die behandelten Tiere insulinbindende Antikörper. Die Schädigungen der Glomeruli waren bei den behandelten Tieren weniger ausgeprägt als bei den Kontrolltieren. Insgesamt ist festzustellen, daß eine Reinigung der Insulinpräparate durch chromatographische Techniken die Immunogenität der Insuline verringern kann, ohne sie jedoch ganz aufzuheben. Wie Kumar et al. (1974) führen wir die immunogene Restwirkung unseres Insulinpräparates auf den physikalischen Zustand unseres Insulins zurück. Die geringeren glomerulosklerotischen Veränderungen der behandelten Tiere können wir im Wesentlichen durch die Normalisierung des Glucosestoffwechsels erklären. Dennoch konnten wir weniger erfolgreiche Ergebnisse als Wehner et al. (1978) verbuchen, da wir die immunologischen Faktoren, die eine Glomerulosklerose begünstigen, nicht ganz ausschalten konnten und die Blutzuckersenkung bei unseren Versuchstieren nicht ganz optimal war.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im Tierversuch wollten wir die Frage nach dem Einfluss einer Stoffwechselnormalisierung mit Insulin auf die Entwicklung und den Verlauf der diabetischen Glomerulosklerose beantworten. Unsere Versuche an genetisch diabetischen KK- Mäusen, die über sechs Monate mit hochgereinigtem Monocomponent-Monotard-Insulin behandelt wurden, ergaben bei quantitativ morphologischen Untersuchungen der glomerulären Veränderungen im Blindversuch und gleichzeitigen Blutzucker- und Antikörperbestimmungen folgende Ergebnisse:

1. 15 Tiere wurden als Kontrollgruppe 6 Monate nicht behandelt. Mit zunehmendem Alter entwickelten sich schwere glomerulosklerotische Veränderungen. Bei hochsignifikant ansteigendem Prozentsatz an Mesangiumzellen registrierten wir eine hochsignifikante Zunahme der absoluten und relativen Mesangiumfläche.
2. Die Glomeruli der 15 über 1, 3 und 6 Monate behandelten Tiere zeigten bei verbesserter Stoffwechsellage keine signifikante Zunahme der relativen Mesangiumfläche. Dagegen stieg der Prozentsatz an Mesangiumzellen und die Mesangiumzellzahl nach 6 Monaten. Die Antikörperspiegel waren bei den behandelten Tieren erhöht.

Daraus geht hervor, daß eine Stoffwechselnormalisierung mit Monocomponent-Insulin die Entwicklung und den Verlauf der diabetischen Glomerulosklerose günstig beeinflussen. Zwar nehmen sowohl bei den Kontrollgruppen als auch bei den Versuchsgruppen der prozentuale Anteil der Mesangiumzellen im Laufe des Beobachtungszeitraumes signifikant zu, doch unterscheiden sie sich in ihrer quantitativen Ausprägung. Die Steigerung der prozentualen Mesangiumzellen ist bei den 6 Monaten behandelten Tieren niedriger als bei den Kontrolltieren. Am eindeutigsten läßt sich der Therapieeinfluss anhand der relativen

Mesangiumfläche nachweisen, die bei den behandelten Tieren nach 6 Monaten signifikant niedriger war. Aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen schließen wir, daß bei der Behandlung des Diabetes mellitus mit einem hochgereinigtem Monocomponent-Insulin eine gute Einstellung der Blutzuckerwerte für die Prophylaxe der diabetischen Nierenveränderungen von entscheidender Bedeutung ist.

6. LITERATURVERZEICHNIS

Andreani, D., M. Iavícoli, G. Tamburrano and G. Menzinger:
Comparative trials with monocomponent (MC) and monospezies (MS) pork insulins in the treatment of diabetes mellitus. Influence on antibody levels, on insulin requirement and on some complications.
Horm. Metab. Res. 6 , 447 - 454 (1974)

Berson, S.A., R.S. Yalow, A. Baumann, M.A. Rothschild, K. Newerly:
Insulin - J^{131} metabolism in human subjects: Demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects.
J. clin. Invest. 35 , 170 - 190 (1956)

Berson, S.A., R.S. Yalow:
The present status of insulin antagonists in plasma.
Diabetes 13 , 247 - 259 (1964)

Bloodworth, J.M.B., Jr., R.L. Engerman:
Spontaneous and induced diabetic microangiopathy.
In: Lundbaek, K. and Keen, H. (eds): diabet. lat., vol VIII, Suppl. 1. Il Ponte, Milano p. 263 - 298 (1971)

Bloodworth, J.M.B., R.L. Engerman and P.J. Anderson:
Microangiopathy in the experimantally diabetic animal.
Adv. Metab. Disorders 2 , 245 - 250 (1973)

Brunk, R.:
Spontandiabetes bei Tieren.
In: Handbuch der exp. Pharmakologie XXXII / 1
Insulin (Hrsg.: E. Dorzbach) 203 - 272 , Berlin,
Heidelberg, New York: Springer Verlag 1971.

Camerini-Davalos, R.A., W. Oppermann, R. Mittl,
T. Ehrenreich:
Studies of vascular and other lesions in KK- mice.
Diabetologia 6 , 324 - 329 (1970)

Camerini-Davalos, R.A., W. Oppermann, A.S. Reddi und
C.A. Velasco:
The development of the diabetic microangiopathy.
In: Diabetische Angiopathien.
Hrsg.: K. Alexander und M. Cachovan.
Baden-Baden, Brüssel, Köln, New York:
Witzstrock 49 - 60 (1977)

Dachs, S., J. Churg, W. Mautner and E. Grishman:
Diabetic nephropathy. Am. J. Path., 44 , 155 - 168
(1964)

Deckert, T. and E. Grundahl:
The antigenity of pig insulin.
Diabetologia 6 , 15 - 20 (1970)

Duhault, J., F. Lebon and M. Boulanger:
KK- mice as a modell of microangiopathic lesions
in diabetes.
Bibl. anat., No. 11 , 453 - 458 (1973)

Fox, C.J., S.C. Darby, J.T. Ireland, P.H. Sönksen:
Blood glucose control and glomerular capillary base-
ment membrane thickening in experimental diabetes.
In: British medical journal, 2 , 605 - 607 (1977)

Fuchs, U., D. Lohmann, R. Menzel, H. Ambrosius, A. Pohl, J. Schade, K. Sorger und G. Timm:
Experimentelle Insulinallergie und diabetische Glomerulosklerose.
Exp. Path. 8 , 241 - 265 (1973)

Grieble, H.G.:
Renal lesions induced by heterologous insulin: an example of foreign protein nephritis.
J. Lab. clin. Med. 56 , 19 - 20 (1960)

Iidaka, K., Mc Coy and P. Kimmelstiel:
The glomerular mesangium. A quantitative analysis.
Lab. Invest. 19 , 636 - 643 (1968)

Kawano, K., M. Arakawa, J. Mc Coy, J. Porch and P. Kimmelstiel:
Quantitative study of glomeruli. Focal glomerulonephritis and diabetic glomerulosclerosis.
Lab. Invest. 21 , 269 - 275 (1969)

Kern, P., J. Picard, M. Caron, D. Veissiere:
Decreased binding of insulin to liver plasma membrane receptors in hereditary diabetic mice.
Biochem. Biophys. Acta 389 (2) 281 - 289 (1975)

Kimmelstiel, P., C. Wilson:
Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney.
Amer. J. Path. 12 , 83 - 97 (1936)

Kimmelstiel, P.:
Diabetic nephropathy
In: Structural basis of renal disease.
(Ea.: E.L. Becker), 462 - 486, New York, Evaston and London: Hoeber Medical Division, Harper and Row (1968)

Kondo, K., K. Nozawa, T. Tomita and K. Ezaki:
Inbred strains resulting from Japanese mice.
Bull. Exp. Animals 6 , 107 - 112 (1957)

Korp, W. und R.E. Levett:
Erfahrungen mit Monocomponent - Insulin.
Wien klin. Wschr. 85 , 326 - 330 (1973)

Kumar, D., S.D. Mehtalia and L.V. Miller:
Antigenicity of monocomponent porcine insulin in rabbits.
In: Horm. Metab. Res. 6 , 175 - 177 (1974)

Lee, C.S., S.M. Mauer, D.M. Brown, D.E.R. Sutherland, A.F. Michael and J.S. Najarian:
Renal transplantations in diabetes mellitus in rats.
J. Exp. Med. 139 , 793 - 800 (1974)

Lundbaek, K., N.J. Christensen, V.A. Jensen, K. Johansen, ST.T. Olsen, AA.P. Hansen, H. Ørskov, R. Østerby:
Die diabetische Angiopathie.
Verh. dtsch. Ges. für I. Med. 76 , 76 - 82 (1970)

Lundbaek, K.:
Diabetic angiopathy.
In: Handbuch des Diabetes mellitus, Band II.
Hrsg.: E.F. Pfeiffer
München: J.F. Lehmanns 649 (1971)

Lundbaek, K.:
Diabetische Angiopathie.
Münch. med. Wschr. 119 , 647 - 654 (1977)

Mauer, S.M., W. Michael, M.W. Steffes, D.E.R. Sutherland, J.S. Najarian, A.F. Michael and D.M. Brown:
Studies of the rate of regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation.
Diabetes 24 , 280 - 285 (1975)

Mohos, S.C., G.R. Henningar, J.A. Fogelman:
Insulin-induced glomerulosclerosis in the rabbit.
J. Exp. Med. 118 , 667 - 680 (1963)

Movat, H.Z.:
Silver impregnation methods for electron microscopy.
Amer. J. clin. Path. 35 , 528 - 537 (1961)

Nakamura, M.:
A diabetic strain of the mouse.
Proc. Japan. Acad. 38 , 348 - 352 (1962)

Nakamura, M., K. Yamada:
Studies on a diabetic (KK) strain of the mouse.
Diabetologia 3 , 212 - 221 (1967)

Oppermann, W., T. Ehrenreich, D. Patel, T. Espinoza, R.A. Camerini-Davalos:
Related factors in the progression of microangiopathie in KK- mice.
In: Camerini-Davalos and Cole, Adv. metab. disord. Suppl. 2 , 280 - 290
Academic Press, New York (1973 a)

Oppermann, W., H. Iwatsuka, C. Velasco, A. Kellogg and R.A. Camerini-Davalos:
Genetic transmission of vasculopathy in KK- mice.
In: Camerini-Davalos and Cole, Adv. metab. disord. Suppl. 2 , 139 - 145
Academic Press, New York (1973 b)

Østerby-Hansen, R., K. Lundbaek, T.ST. Olsen and H. Ørskow:
Kidney lesions in rats with severe long-term Alloxan diabetes.
Lab. Invest. 17 , 675 - 692 (1967)

Østerby, R.:
Kidney structural abnormalities in early diabetes.
Advances in metabolic disorders.
Suppl. 2 p. 323 - 332 (1973)
Academic Press New York - London

Østerby, R.:
The number of glomerular cells and substructures in early juvenile diabetes.
A quantitative electron microscopic study.
Acta path. microbiol. scand. Section A 80 ,
785 - 800 (1972)

Schlichtkrull, J.:
Proinsulin und verwandte Proteine – chemische und biologische Untersuchungen.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 76 , 14 - 21 (1970 a)

Schlichtkrull, J., J. Brange, H. Ege, O. Hallund, L.G. Heding, K. Jørgensen, J. Markussen, P. Stanke, F. Sunby, AA. Vølund:
Proinsulin and related proteins. 5th annual meeting of the european association for the study of diabetes.
Montpellier (1968) Diabetologia 6 , 80 - 81 (1970 b)

Schlichtkrull, J., AA. Brange, H. Christiansen, O. Hallund, L.G. Heding, K.H. Jørgensen, S. Munkgaard Rasmussen, E. Sørensen, AA. Vølund:
Monocomponent-Insulin and its clinical implications.
Horm. Metab. Res. Suppl. Series Nr. 5 , 134 - 143 (1974)

Serrano Rios, M., L. Larrodera y J.L. Rodriguez - Miñon:
Resultados preliminares de nuestra experiencia con insulina monocomponente monotard.
Revista clinica española Tomo 135 (3) , 219 - 224 (1974)

Sorger, K., J. Schade, P. Caffier, U. Fuchs, G. Taubert, R. Wilmbusse, B. Osten and P.W. Wüstenberg:
Renal biopsies performed on diabeties.
Exp. Path. Bd 13 , 106 - 117 (1977)

Spiro, R.G. and M.J. Spiro:
Effects of diabetes on the biosynthesis of the renal glomerular basement membrane.
Diabetes 20 , 641 - 648 (1971)

Spiro, R.G.:
Search for a biochemical basis of diabetic micro-angiopathy.
Diabetologia 12 , 1 - 14 (1976)

Stauffacher, W., M. Amherdt and L. Orci:
Zur Pathogenese des Hyperglykämischen Syndroms: Untersuchungen an spontan hyperglykämischen "diabetischen" Tieren.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 76 , 21 - 32 (1970)

Steiner, D.F., P.E. Oyer:
The biosynthesis of insulin and probable precursor of insulin by a human islet cell adenoma.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 57 , 473 - 480 (1976)

Steiner, D.F., O. Hallund, A. Rubinstein, S. Cho, C. Bayliss:
Isolation and properties of proinsulin, intermediate forms and other minor components from crystalline bovine insulin.
Diabetes 17 , 725 - 736 (1968)

Teuscher, A.:
Der Platz der "Monocomponent" - Insuline in der Therapie des Diabetes mellitus.
Schw. Med. Wochenschrift 105 , 485 - 494 (1975)

Weber, B., J. Tech, H. Schmidt, U. Oberdisse:
Antikörperbildung und Insulinbedarf von diabetischen Kindern während der Behandlung mit gereinigten Schweineinsulinpräparaten.
Europ. J. Ped. 128 , 89 - 102 (1978)

Wegmüller, E., S. Fankhauser:
Die Antigenität verschiedener Depotinsulinpräparate bei Diabetikern.
Helv. med. Acta Suppl. 50 , 130 (1970)

Wehner, H. und E. Anders:
Quantitative morphologische Analyse glomerulärer Veränderungen bei Diabetikern.
Diabetologia 6 , 505 - 511 (1970 a)

Wehner, H.:
Morphologische Methoden in der Routinediagnostik der Nierenpathologie (Glomerulonephritis).
Beitr. Path. 141 , 402 - 403 (1970 b)

Wehner, H., U. Schade, E. Liebermeister und J. Veigel:
Glomeruläre Veränderungen nach Immunisierung mit heterologem Insulin.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 349 ,
345 - 356 (1970 c)

Wehner, H., D. Höhn:
Menschliche und tierexperimentelle Glomerulosklerose.
In: Fortschritte der Nephrologie (Hrsg.: A. Bohle und G.E. Schubert) 97 - 102, Stuttgart und New York: F.K. Schattauer Verlag (1971)

Wehner, H., D. Höhn, U. Faix-Schade, H. Huber, P. Walzer:
Glomerular changes in mice with spontaneous hereditary diabetes.
Lab. Invest. 27 , 331 - 340 (1972)

Wehner, H., H. Huber and K.H. Kronenberg:
The glomerular membrane of the rabbit kidney on long-term treatment with heterologous insulin preparations of different purity.
Diabetologia 9 , 255 - 263 (1973)

Wehner, H.:
Quantitative Pathomorphologie des Glomerulum der menschlichen Niere.
Veröffentlichungen aus der Pathologie Heft 95, Stuttgart Fischer Verlag (1974)

Wehner, H., B. Majorek:
Early glomerular changes in streptozotocin diabetes of the guiney pig.
Virchows Arch. Abt. A path. Ant. 368 , 179 - 189 (1975)

Wehner, H. und H.V. Gärtner:
Immunhistologische Befunde bei nicht-glomerulonephritischen Nierenerkrankungen.
Virchows Arch. path. Anat. Histol. 375 , 211 - 223 (1977 a)

Wehner, H., B. Schober, R. Dieterich:
Quantitative morphological analysis in glomerular changes of the rabbit kidney on treatment with insulin preparations of different purity.
Virchows Arch. A Path. Anat. and Histol. 374 , 229 - 238 (1977 b)

Wehner, H.:
Morphologie der diabetischen Nephropathie.
Münch. med. Wschr. Nr.15 119 , 489 - 492 (1977 c)

Wehner, H., H. Wagner, A. Podmaniczky, V. Heidbrink, B. Kiessling:
Influence of short-term insulin therapy on the mesangial structure in young kk- mice.
Nephron 22 , 460 - 472 (1978)

Wilson, J.L., H.F. Root, A. Marble:
Diabetic nephropathy. A clinical syndrome.
New Engl. J. Med. 245 , 513 - 517 (1951)

LEBENSLAUF

Am 16. Dezember 1951 wurde ich, Camill Herrmann, als Sohn des Kaufmanns Helmut Herrmann und seiner Ehefrau Irmgard Herrmann geb. Schneider in Lahr geboren.
Ostern 1958 trat ich in die Volksschule Reichenbach bei Lahr ein, von welcher ich 1962 zum Scheffel - Gymnasium Lahr überwechselte. An diesem humanistischen Gymnasium legte ich 1971 meine Reifeprüfung ab. Danach leistete ich bis 1973 meinen Wehrdienst ab. Nach Beendigung meines Militärdienstes begann ich im Wintersemester 1973/74 das Studium der Biologie an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen. In diesem Studiengang bestand ich 1975 die Vordiplomprüfung.
Das Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1976 an der Philipps-Universität Marburg. Dort bestand ich im März 1977 das Physikum. Im September 1977 heiratete ich die Krankenschwester Erna Bergbreiter. Sei dem Sommersemester 1977 studierte ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen. Im März 1978 legte ich den ersten Teil des medizinischen Staatsexamens ab, den zweiten Abschnitt bestand ich im April 1980. Nach der einjährigen praktischen Ausbildung bestand ich den letzten Abschnitt des medizinischen Stattsexamens am 13. April 1981.